

Nancy 1973

Docteur Bernard GE

B. Genetet

1973

DOCTORAT ES SCIENCES

BIOCHIMIE

CONTRIBUTION A L'ETUDE

IMMUNOLOGIQUE DE LA MEMBRANE

DES ELEMENTS FIGURES DU SANG

par

Bernard GENETET

Docteur en Médecine

Licencié-ès-Sciences

Diplômé d'Etudes Approfondies (Biochimie)

N° CNRS AO. 8662

Les publications sous référencées recouvrent la majeure partie
du travail de Thèse

- 1 - Modifications de la mobilité électrophorétique des hématies par la Bromeline. Corrélations immuno-hématologiques.
Soc. Biol. 163.2 - 1969 - 499-504
B. GENETET - J.F. STOLTZ - A. PETERS - F. STREIFF - A. LARCAN
- 2 - La membrane du globule rouge. Mobilité électrophorétique
Nouv. Revue Franc. Hématologie - 1971 - 11.6 913-927
F. STREIFF - J.F. STOLTZ - B. GENETET.
- 3 - Modifications de la mobilité électrophorétique des hématies d'Anémies Hémolytiques à auto-anticorps.
Soc. Biol. 165. 7_8 1971 1689-1692
F. STREIFF - J.F. STOLTZ - B. GENETET - C. RAFFOUX - A. LARCAN
- 4 - Mise en évidence des antigènes du système ABO sur les lymphocytes humains à l'aide de l'électrophorèse en phase liquide.
Acta Hematologica 47. 1972 134-139
J.F. STOLTZ - F. STREIFF - B. GENETET - A. LARCAN
- 5 - Influence des anticorps de groupes sanguins sur la mobilité électrophorétique des plaquettes.
J.F. STOLTZ - B. GENETET - N. PIERRON - F. STREIFF - A. LARCAN

**Modification de la mobilité électrophorétique
des hématies par la broméline,
Corrélation immunohématologique.**

par B. GENETET, J. F. STOLTZ, A. PETERS, F. STREIFF et A. LARCAN.

L'utilisation des enzymes protéolytiques dans les laboratoires d'immuno-hématologie remonte aux années 1950-1951. Morton et Pickles (1) utilisent à cette époque la trypsine pour détecter des anticorps de type non agglutinant du système Rhésus. Nous avons essayé d'approcher le mécanisme d'action de la broméline dans ce domaine à l'aide d'une technique d'électrophorèse de particules colloïdales.

(1) J. A. Morton et L. Pickles, *J. Clin. Path.*, 1951, t. 4, p. 189.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555415_0002

Les enzymes protéolytiques sont réputés agir sur la charge érythrocytaire comme Ponder (2) et Seaman (3) l'ont montré. Un moyen d'aborder l'action de la broméline est d'étudier les variations de cette charge en fonction de la durée d'action et de la concentration de l'enzyme, et d'observer si parallèlement il existe des variations de cette charge. Le second temps, immunologique, est d'établir s'il existe une éventuelle corrélation entre la variation de la charge du globule rouge et l'aptitude de ceux-ci à être agglutinés par des anticorps anti-Rhésus du type incomplet.

LA MIGRATION ÉLECTROPHORÉTIQUE DES GLOBULES ROUGES. — Les interactions physicochimiques entre une particule comme le globule rouge et le milieu suspendant constituent le potentiel zeta (4, 5), ainsi que diverses théories l'ont démontré (Gouy, Champman, Huckel, Stern, Graham, Verwey entre autres). La charge d'une particule colloïdale est liée au potentiel zeta, et toute variation de celui-ci traduira soit une variation du milieu suspendant, soit une variation de la surface de la particule considérée, en l'occurrence le globule rouge. Dans notre étude nous utilisons un reflet de la charge et du potentiel zeta qui est la mobilité électrophorétique (rapport de la vitesse de migration au champ électrique et exprimée en $\mu/s/v/cm$), valeur facilement accessible grâce au cytosphéromètre.

Il s'agit d'un appareil d'électrophorèse en veine liquide (6). La cellule de cet instrument est rectangulaire, les électrodes sont peu polarisables. Le volume nécessaire à la mesure est de l'ordre de 25 ml et il est éventuellement possible d'opérer à température constante (à 0,02°C près) grâce à un ultrathermostat de précision.

Méthodes expérimentales. — Des quantités croissantes de broméline, variant de 25 mg à 1.000 mg pour 100 ml, ont été ajoutées à des suspensions à 1 % en eau physiologique de globules rouges lavés. Ces globules rouges appartenaient au groupe O, mais étaient de phénotypes Rhésus différents (7) : R_1R_1 ; R_1r ; R_1R_2 et R_2R_2 . Les mesures ont été faites à la température du laboratoire.

Pour chaque concentration d'enzymes, nous avons mesuré la mobilité électrophorétique des globules rouges, chaque point expérimental correspond à la moyenne de mobilité établie après comptage de la vitesse de migration de 10 à 20 hématies du même type. Les résultats sont exprimés en mobilité relative par rapport à la mobilité des globules rouges en eau physiologique (celle-ci étant de l'ordre de 1,1 $\mu/s/v/cm$).

(2) E. Ponder, *Blood*, 1951, t. 6, p. 350.

(3) G. V. F. Seaman et G. M. W. Cook, Modification of the electrophoretic behaviour of the erythrocyte by chemical and enzymatic methods, in *Cell electrophoresis*, 1965, Ed. J. A. Churchill, London.

(4) J. F. Stoltz, Les phénomènes électrocinétiques dans les suspensions. Applications au sang, Mémoire de DEA de Chimie-Physique, Faculté des Sciences de Nancy, juillet 1968.

(5) A. Larcen, J. F. Stoltz, M. Stoltz et A. Peters, *Path. Biol.*, 1969, à paraître.

(6) J. F. Stoltz, M. Stoltz, A. Peters, F. Collin et A. Larcen, *Journal de Chimie physique*, 1969, à paraître.

(7) B. Genetet, Les enzymes protéolytiques au laboratoire d'immunohématologie. Etudes préliminaires, Mémoire de DEA de Biologie, Faculté des Sciences de Nancy, novembre 1968.

Sur le plan immunologique, nous avons pratiqué un titrage d'un anticorps anti-Rho connu, de type incomplet, à l'aide d'hématies de phénotype Rhésus décrit plus haut en suspension à 1 % en eau physiologique et auxquelles des quantités croissantes d'enzymes ont été ajoutées. Après 2, 10, 30, 60 minutes d'incubation à la température du laboratoire, une centrifugation était effectuée, le titre et le score étant alors établis.

Résultats. — 1. VARIATIONS DE LA MOBILITÉ ÉLECTROPHORÉTIQUE DES GLOBULES ROUGES SOUS L'INFLUENCE DE LA BROMÉLINE (fig. 1, 2 et 3). — Les variations de la mobilité sont très nettement fonction de la concentration enzymatique. L'optimum d'action de la broméline se situe entre 8 et 20 minutes, et les diminutions de la mobilité peuvent atteindre près de 70 %.

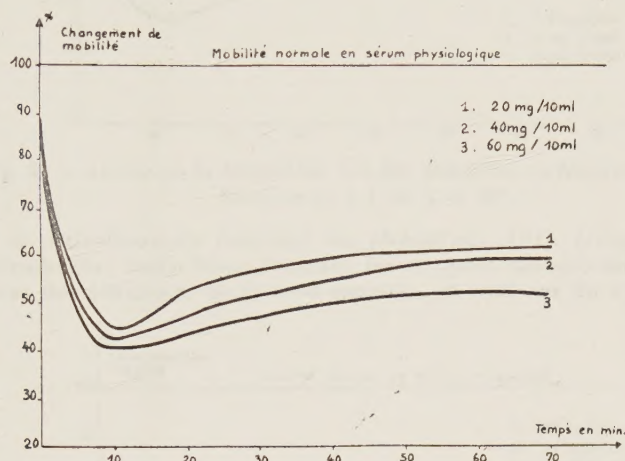


Fig. 1. — Action de la broméline sur des hématies en fonction du temps.
Suspension hématies à 1 %.

En ce qui concerne le maximum de l'action enzymatique, il est atteint plus rapidement aux concentrations faibles qu'il ne l'est avec les concentrations fortes. De plus, après une diminution importante de la mobilité à laquelle nous parvenons en quelques minutes, il existe dans tous les cas une remontée et l'atteinte d'un plateau. Nous n'avons pas trouvé d'explication valable à ce phénomène.

2. VARIATIONS DES ANTIGÈNES DU GROUPE SANGUIN RHÉSUS, SOUS L'EFFET DE LA BROMÉLINE (8). — Afin d'apporter à nos essais de corrélation : migration des hématies - études immuno-hématologiques, le maximum de précision, nous avons réalisé des groupages dans le sys-

(8) B. Genetet, Le potentiel zeta des éléments figurés du sang. Application à la stabilité sanguine et aux réactions immuno-hématologiques, Mémoire de C.E.S. d'Hématologie Supérieure, Faculté de Médecine de Nancy, Juillet 1968.

tème Rhésus avant et après traitement des globules par l'enzyme. Dans aucun cas nous n'avons observé de variations de phénotype dans le système considéré. Or, nous avons montré par ailleurs qu'il n'existait

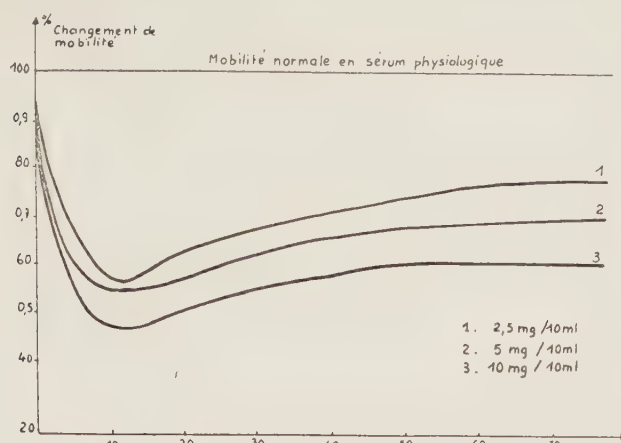


Fig. 2. — Action de la broméline sur des hématies en fonction du temps. Suspension à 1 %. T = 20°.

pas de variations en fonction du phénotype ABO. L'enzyme attaque la membrane, mais laisse intactes les couches alcool-solubles constitutives des antigènes de groupe sanguin, en tout cas du système A.B.O.

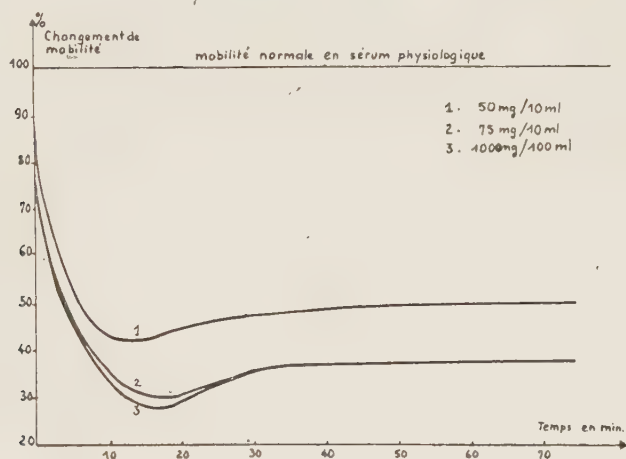


Fig. 3. — Action de la broméline sur des hématies en fonction du temps. Suspension à 1 %. T = 20°.

3. CORRÉLATIONS IMMUNO-HÉMATOLOGIQUES (tableau). — Encore que, par simplification, nous n'ayons pas reproduit les résultats obtenus

avec les différentes hématies, nous avons constaté : a) que quel que soit le phénotype Rhésus des globules rouges, il est nécessaire d'utiliser une concentration d'enzymes égale ou supérieure à 200 mg/100 ml ; b) il est en général nécessaire d'attendre 10 minutes pour

Concentration en enzymes	Dilution du sérum								Durée d'action de l'enzyme (mn)
	2	4	8	16	32	64	128	256	
10	—	—	—	—	—	—	—	—	2
	—	—	—	—	—	—	—	—	10
	—	—	—	—	—	—	—	—	30
	—	—	—	—	—	—	—	—	60
25	—	—	—	—	—	—	—	—	2
	—	—	—	—	—	—	—	—	10
	—	—	—	—	—	—	—	—	30
	—	—	—	—	—	—	—	—	60
50	—	—	—	—	—	—	—	—	2
	—	—	—	—	—	—	—	—	10
	—	—	—	—	—	—	—	—	30
	—	—	—	—	—	—	—	—	60
200	—	±	±	±	±	—	—	—	6
	—	—	—	—	+	+	—	—	8
	—	—	—	—	+	+	+	—	15
	—	—	—	—	+	+	+	—	15
400	—	—	+	+	+	+	±	—	32
	—	—	+++	+	+	+	+	±	22
	—	—	+++	+++	+++	+	+	+	30
	—	±	+++	+++	+++	+	+	+	39
600	—	—	+++	+	+	+	±	—	41
	—	±	+	+	+	+	±	—	25
	—	+	+	+	+	+	±	—	21
	—	+++	+++	+++	+++	+	+	±	24
800	—	—	+++	+	+	+	±	—	44
	—	±	±	+	+	+	±	—	21
	—	+++	+++	+++	+++	+	+	±	44
	—	+++	+++	+++	+++	+	+	±	38
1 000	—	+++	+++	+++	+++	+	+	±	50
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	41
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	46
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	65
1 000	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	64
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	2
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	10
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	30
1 000	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	60
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	2
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	10
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	±	30

Action de la broméline sur des hématies O R₁ R₁.

obtenir un titrage correct traduisant la quantité d'anticorps présents dans le sérum considéré ; c) il est intéressant d'utiliser des hématies du type O R₁R₁ qui permettent un titrage plus sensible.

Commentaires. — Il s'avère que l'action enzymatique s'imprime sur l'hématie de telle façon que la charge de celle-ci subit des variations, si bien que la mobilité s'abaisse dans des proportions considérables. La charge est principalement fonction (9, 10) de la présence d'acide sialique (acide neuraminique). La broméline détruit cet acide, sans pour autant détruire les antigènes de groupes sanguins ni dans le système ABO ni dans le système Rhésus.

La charge du globule rouge étant le reflet de la présence de l'acide sialique, sa disparition plus ou moins complète sous l'action enzymatique entraîne une diminution de la mobilité comme nous l'avons mesuré. Normalement, la charge provoque une inter-répulsion des hématies. Sur le plan immunologique, la perte de charge de l'hématie, sous l'effet de l'enzyme, diminue cette inter-répulsion ce qui conduit l'anticorps anti-Rhésus de type incomplet à se fixer sur deux hématies entraînant l'agglutination. Cette explication apparaît d'autant plus plausible que la sensibilité maximum de la technique de titrage est atteinte quand l'action de l'enzyme a également atteint son maximum, en général 10 minutes.

Résumé. — Après traitement par des concentrations croissantes de broméline, le potentiel zeta des globules rouges est considérablement diminué. L'enzyme provoque ainsi une diminution de la mobilité électrophorétique des hématies pouvant dépasser 70 % de la valeur moyenne en eau physiologique.

L'enzyme attaque la membrane, ce qui aurait pour conséquence la perte d'acide sialique, d'où une diminution de l'inter-répulsion réciproque des érythrocytes. Dans ces conditions, l'action des enzymes protéolytiques utilisés dans les laboratoires d'immunologie pour la détection et le titrage des anticorps de type non agglutinants s'en trouve explicitée en partie.

(Laboratoire du Centre Régional de Transfusion Sanguine
[Directeur : M. F. Streiff], 9 et 11 rue Lionnois, 54 - Nancy).

(9) E. H. Eylar, M. A. Madoff, O. V. Brody et J. L. Oncley, *J. Biol. Chem.*, 1962, t. 237, p. 1992.

(10) E. H. Eylar et M. A. Madoff, *Fed. Proc.*, 1962, t. 21, p. 402.

JOURNÉE D'ÉTUDES SUR
LA MEMBRANE DU GLOBULE ROUGE

(14 mai 1971)

Mobilité électrophorétique du globule rouge (*)

par F. STREIFF, J. F. STOLTZ et B. GENETET.

L'essai d'approche des propriétés de la membrane globulaire à l'aide de l'électrophorèse en phase liquide n'est pas nouveau. Cependant, les travaux récents sur la membrane et sur la structure des antigènes ont donné un intérêt nouveau à cette technique appliquée à l'immuno-hématologie.

Notre but est de donner quelques-uns de nos résultats obtenus concernant l'étude de la membrane érythrocytaire, ainsi que de certaines réactions antigène-anticorps en relation avec leur mode courant de détection.

I. QUELQUES RAPPELS THÉORIQUES SUR LE POTENTIEL ZÉTA

Une particule chargée se déplace sous l'action d'un champ électrique en entraînant une partie du nuage ionique. On appelle alors potentiel Zéta le potentiel à la surface qui sépare la partie immobile de la partie diffuse du nuage ionique périparticulaire.

Bien que de nombreuses théories permettent d'étudier le potentiel Zéta, certains auteurs utilisent la mobilité électrophorétique (rapport entre la vitesse des particules et le champ électrique). De notre côté, nous avons utilisé la plupart du temps la mobilité électrophorétique. Historiquement, la première formule liant la mobilité électrophorétique au potentiel Zéta est celle de HELMHOLTZ-SMOLUCHOWSKI :

$$\zeta = \frac{4 \pi \eta}{D} \cdot M$$

où η est la viscosité du milieu environnant, D sa constante diélectrique et M la mobilité électrophorétique. Mais cette formule est applicable à des particules relativement grosses et non conductrices, c'est pourquoi HUCKEL démontrait une formule modifiée :

$$\zeta = \frac{6 \pi \eta}{D} \cdot M.$$

Cependant, pour cette théorie les domaines d'application sont restreints; c'est pourquoi HENRI propose l'utilisation d'une formule tenant compte de l'épaisseur de la « double couche » :

$$\zeta = \frac{\pi \eta}{D} \cdot M f(Ka).$$

Le facteur $f(ka)$ est appelé facteur de HENRI, il dépend du rayon de courbure de la particule a et de la fonction de DEBYE-HUCKLE. D'autres théories plus élaborées ont été envisagées (GRAHAME, OVERBEECK, etc.). Cependant dans les domaines biologiques, pour des faibles valeurs du potentiel, la formule d'HELMHOLTZ semble suffisante. La charge superficielle σ est alors accessible au calcul lorsque l'on connaît ζ (théorie de GOVY-CHAPMAN, par exemple).

(*) Travail réalisé avec l'aide de la D.R.M.E. (Section Biologie). Contrat n° 71.34.034.00.480.75.01.

II. RAPPEL SUR LA TECHNIQUE D'ÉLECTROPHORÈSE EN PHASE LIQUIDE

Nous rappellerons que la mesure de la vitesse de migration d'une particule dans un champ électrique est réalisée par observation microscopique dans une cellule de section rectangulaire ou circulaire (parfois à double voie).

Pour éviter les effets électro-osmotiques, les mesures doivent être réalisées en des points particuliers. C'est ainsi que pour une cellule circulaire simple il faut se placer au point $r = \frac{\sqrt{2}}{2} R$ (où R est le rayon de la cellule), alors que pour une cellule rectangulaire simple on se placera aux points définis par les formules de KOMAGATA ($y = \pm b \sqrt{\frac{1}{3} \left(1 + \frac{384}{\pi^2 k} \right)}$). Nous avons d'ailleurs eu l'occasion de discuter la validité de ces formules.

Pour nos expériences, nous avons la plupart du temps utilisé un appareil d'électrophorèse appelé cytosphéromètre avec des électrodes à double bouchon de plâtre.

III. RÉSULTATS CONCERNANT L'ÉTUDE DE LA MEMBRANE ÉRYTHROCYTAIRE

1° Valeurs moyennes de la mobilité des hématies.

Les travaux sur la charge des hématies sont relativement nombreux. Ils démontrent cependant que dans les mêmes conditions de détermination la mobilité électrophorétique est une constante. C'est ainsi que des hématies humaines dans leur propre plasma, dans les douze heures qui suivent le prélèvement, ont une mobilité voisine de $1,27 \pm 0,03 \mu/s/V/cm$.

Ces mêmes hématies lavées et resuspendues dans des milieux variables ont alors une mobilité très différente comme le montre le tableau I. Une telle constatation met en relief de façon qualitative l'importance des différents constituants plasmatiques et de la force ionique sur la charge érythrocytaire. Nous reviendrons d'ailleurs sur ces notions ci-dessous.

L'origine de cette charge a cependant été longtemps discutée. Ainsi, FURCHGOTT et PONDER ont pu montrer que la surface de l'hématic était en grande partie composée de lipides et que les groupements acides pouvaient être des résidus de molécules de céphaline. De leur côté, WINKLER et BURGENBERG DE JONG considèrent que la membrane érythrocytaire à pH = 7,0 est un système complexe de phospholipides, de stromatine et d'un cation (Ca^{++}). D'autre part, le « spectre ionique » qu'ils obtiennent semble suggérer un caractère phospholipidique de l'intérieur membranaire. De leur côté, BANGHAM et coll. suggèrent que les groupements érythrocytaires sont en majorité des phospholipides, notamment l'acide phosphatidique et le monophosphoinositide. EYLAR et coll. ont tenté de déterminer la charge érythrocytaire et d'établir une corrélation avec la présence d'acide sialique. C'est d'ailleurs cette dernière hypothèse qui est certainement valable. L'importance de l'acide sialique est d'ailleurs confirmée indirectement par les travaux de DOWSON et coll. qui montrent que le traitement de l'hématic par les solvants organiques n'induit pas de variation de charge.

Il est certain que toutes ces expériences, aussi intéressantes qu'elles puissent être, sont difficilement interprétables et le concept d'un simple groupement ionique de

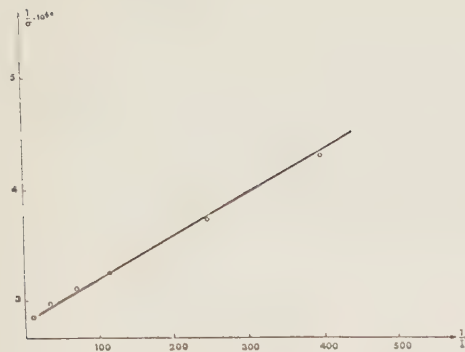


FIG. 1. — Relation entre la charge et la force ionique (isotherme de Langmuir).

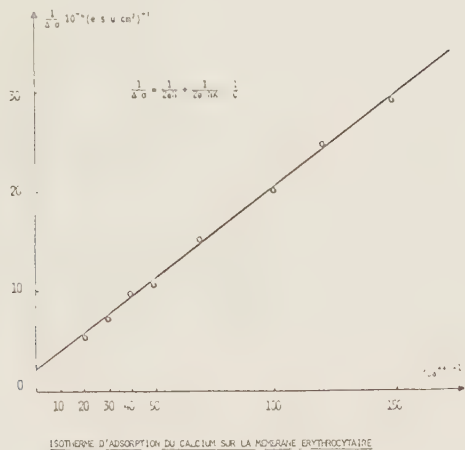


FIG. 2 (d'après STOLTZ, STREIFF et LARCAN, 1971).

TABEAU I

Appareil utilisé	Milieu suspendant	Mobilité $\mu/s/V/cm$	Auteur de l'étude
Rectangulaire.	Phosphate.	1,30	ABRAMSON.
Rectangulaire.	Phosphate.	1,27	HARTMAN.
Rectangulaire.	Phosphate.	1,31	LOVEDAY.
Rectangulaire.	Phosphate.	1,28	BRODY.
Cylindrique.	Phosphate.	1,32	Mc QUILEN.
Rectangulaire.	Chlorure.	1,07	BRODY.
Rectangulaire.	Chlorure.	1,10	FURCHGOTT.
Rectangulaire et cylindrique.	Chlorure.	1,10	Résultats personnels.
Rectangulaire et cylindrique.	Plasma.	1,28	Résultats personnels.
Rectangulaire.	Plasma.	1,29	RUHENSTROTH-BAUER.

Mobilité des globules rouges en fonction du milieu de suspension à 25°.

surface présente des difficultés d'interprétation des données expérimentales. Par exemple, des hématies de formes différentes semblent posséder la même densité superficielle de charge. C'est ainsi qu'une telle constatation incite ABRAMSON (1936) à évoquer un mécanisme de stabilisation.

2° Influence de la dilution du sérum et des principaux constituants plasmatiques.

a) *Aspect qualitatif.* Si l'on étudie l'influence de dilutions géométriques du sérum par de l'eau physiologique, on constate qu'à partir d'une dilution voisine du 1/16 on retrouve une valeur voisine de la valeur en eau physiologique, ce qui semble normal car du point de vue viscosité et constituants ce système est proche de l'eau physiologique pure (fig. 3).

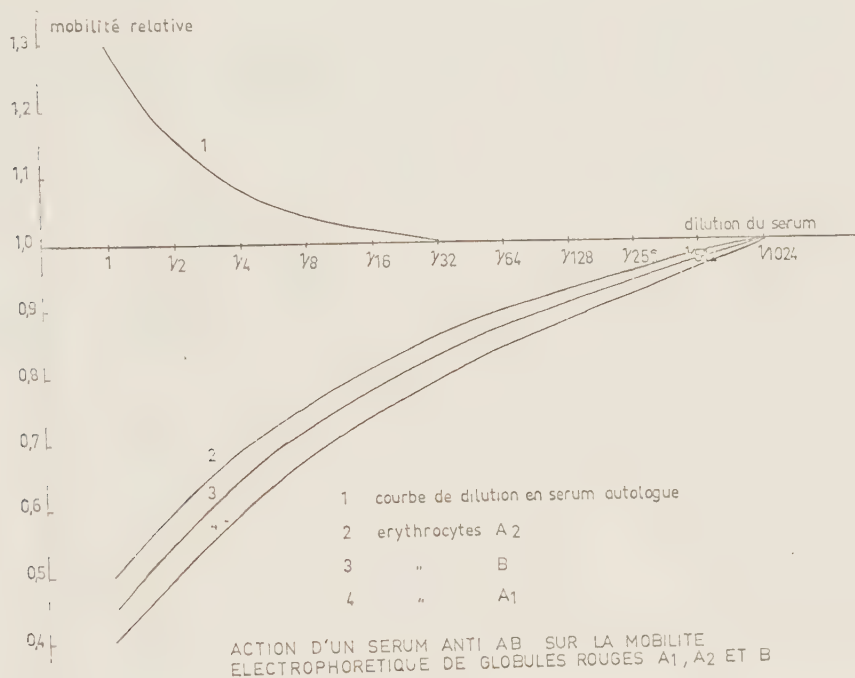


FIG. 3.

b) *Aspect quantitatif.* Il est certain que la fixation non immunologique est acceptée aujourd'hui comme un phénomène physiologique. Son étude détaillée devrait d'une part préciser nos connaissances de la structure et des propriétés de la membrane érythrocytaire, d'autre part apporter un essai d'explication aux phénomènes pathologiques observés au cours des paraprotéïnémies.

Après un premier travail qualitatif déjà ancien cherchant à préciser l'influence des différentes protéines plasmatiques, nous avons étudié la fixation non immunologique de protéines purifiées sur les hématies. Nos résultats (tableau II) révèlent les interférences avec la membrane de chaque molécule testée en fonction de la dose. Nous avons cherché

à quantifier le phénomène par la recherche de « l'isotherme d'adsorption » des différentes molécules sur la membrane. En effet, les résultats de PIROFSKY et coll. mettaient en évidence une relation de la forme :

y / y_0 = (x / x_0)^k

où y = concentration en immunoglobulines dans le milieu suspendant,
x = nombre de molécules fixées sur l'hématie.

Nous avons alors cherché, à partir du calcul de la charge superficielle, à définir la variation relative de charge en fonction de la concentration protéique : Δσ = f(c).

Dans une telle représentation, on peut penser que, dans le cas d'une fixation mono-

TABEAU 1.

Dose en mg/ml	Albumine 1 ^{er} lot	Albumine 2 ^e lot	γ-globuline 1 ^{er} lot	γ-globuline 2 ^e lot	γ-G	γ-M 1 ^{er} lot	γ-M 2 ^e lot
10 ⁻⁴	1,06 ±0,04	1,04 ±0,03	1,08 ±0,04	1,04 ±0,05	1,02 ±0,03	0,99 ±0,06	0,95 ±0,05
10 ⁻³	1,13 ±0,05	1,12 ±0,04	1,16 ±0,05	1,10 ±0,07	1,05 ±0,03	1,08 ±0,05	0,98 ±0,06
10 ⁻²	1,19 ±0,05	1,20 ±0,06	1,21 ±0,05	1,20 ±0,04	1,08 ±0,04	1,11 ±0,06	1,03 ±0,05
10 ⁻¹	1,25 ±0,06	1,21 ±0,05	1,27 ±0,06	1,21 ±0,07	1,13 ±0,04	1,09 ±0,04	1,05 ±0,04
1	1,12 ±0,07	1,20 ±0,06	1,16 ±0,06	1,15 ±0,07	1,14 ±0,05	1,13 ±0,06	1,15 ±0,05
2	1,17 ±0,06	1,23 ±0,07	1,23 ±0,08	1,12 ±0,08	1,19 ±0,06	—	—
5	1,29 ±0,1	1,24 ±0,05	—	1,16 ±0,06	1,24 ±0,05	—	—
10	0,98 ±0,09	0,95 ±0,07	1,03 ±0,08	1,06 ±0,05	—	—	—
40	0,88 ±0,07	0,85 ±0,06	—	—	—	—	—
100	0,67 ±0,05	0,70 ±0,05	—	—	—	—	—

Influence de différentes protéines plasmatiques sur la mobilité relative des hématies (sans correction de viscosité). Chaque valeur correspond au minimum à la moyenne de 5 hématies différentes (d'après STOLTZ, VIGNERON et STREIFF, 1971).

En ce qui concerne la relation éventuelle entre le pH et la force ionique, nous avons envisagé l'application de la relation de LANGSWORTH et coll. pour l'ovalbumine.

Malheureusement, nos résultats aux environs du point isoélectrique sont trop imprécis pour que l'on puisse conclure à la validité d'une telle relation théorique.

4^e Isotherme d'adsorption des ions Ca^{++} .

Il est également possible d'envisager l'étude de certains sites ioniques à la surface érythrocytaire. C'est ainsi que nous avons déterminé les sites du calcium à l'aide d'un milieu $ClNa-Cl_2Ca$ à force ionique et pH constant.

Pour différentes concentrations en Ca^{++} nous avons déterminé :

$$\Delta s = 2 e Z_{Ca}$$

avec $\begin{cases} Z_{Ca} = \text{nombre d'ions } Ca^{++} \text{ par cm}^2, \\ e = \text{charge électron.} \end{cases}$

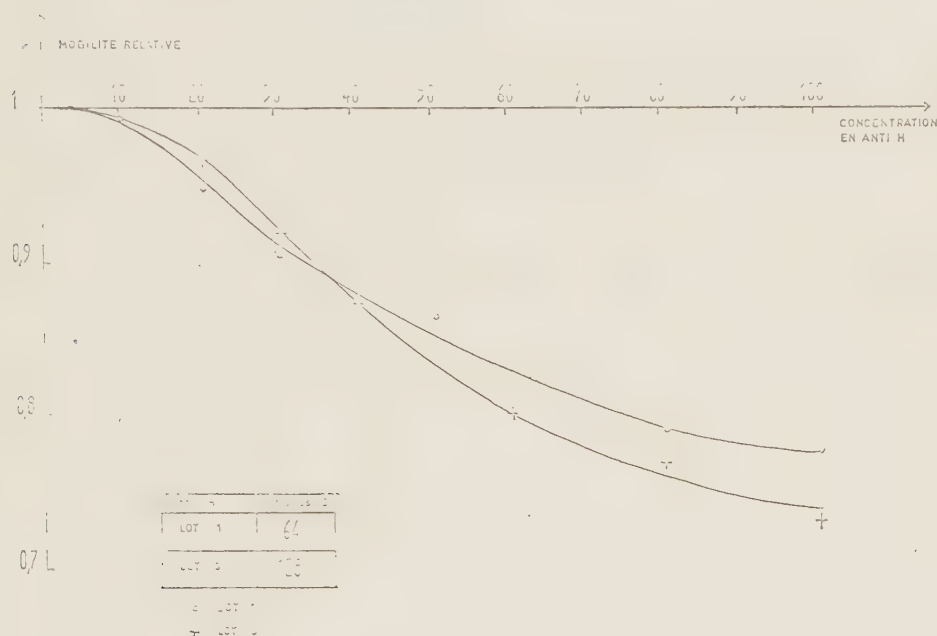


FIG. 4. — Action de deux sérums anti-II sur la mobilité électrophorétique d'hématies O.

La représentation (fig. 2) de $\frac{1}{x}$ en fonction de $\frac{1}{C}$ traduit l'existence d'une isotherme de type Langmuir.

$$\frac{1}{x} = \frac{1}{CN} + \frac{1}{CN^2} + \frac{1}{C}$$

où N est le nombre de sites anioniques permettant l'adsorption du calcium sur la membrane. A partir des résultats de la figure 4 et en prenant la surface de l'hématie égale à $1,610^{-9} \text{ cm}^2$ nous avons trouvé $N = 7,6 \cdot 10^9$ sites par cellule.

NOUV. REV. FR. D'HÉMAT., T. 11, N° 6, NOV.-DÉC. 1971.

3° Action des phytoagglutinines sur la mobilité électrophorétique d'hématies de phénotypes A, AB et O.

Nous avons étudié l'action d'extraits de *Dolichos biflorus* et d'*Ulex europæus* sur la charge de globules de phénotype A1, A2 et O, avec un protocole semblable à celui décrit ci-dessus.

On constate alors une diminution de la mobilité, et ceci en fonction inverse de la

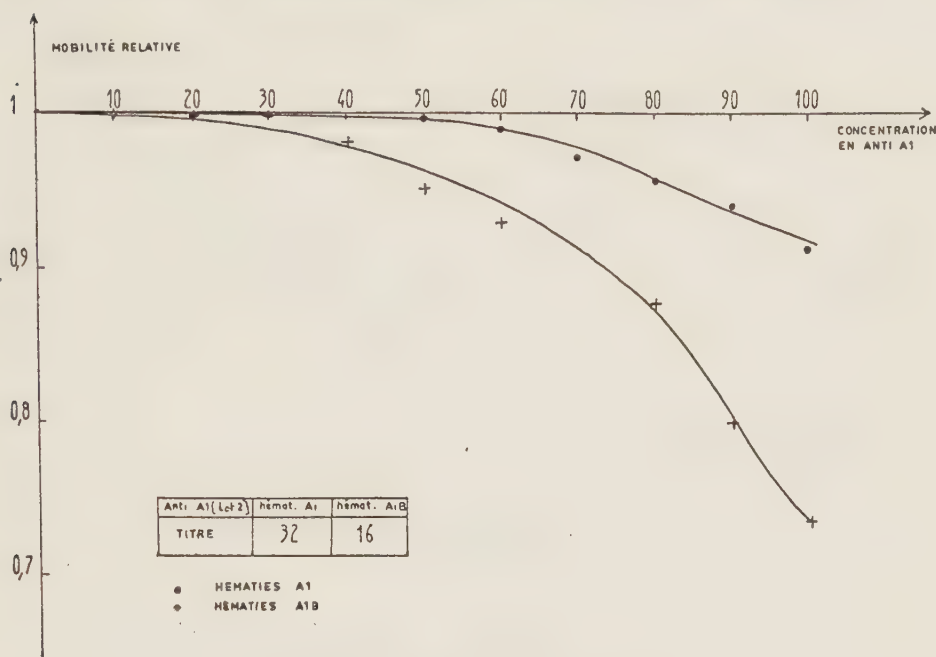


FIG. 5. — Action d'un sérum anti-A1 sur la mobilité électrophorétique d'hématies A1 et A1B.

concentration en phytoagglutinines (fig. 4 et 5). Ceci traduit vraisemblablement la fixation de la phytoagglutinine sur les érythrocytes, et non pas les variations du milieu sur l'effet de la dilution par le sérum physiologique, car nous travaillons dans ce cas à force ionique pratiquement constante.

4° Action des anticorps de type incomplet.

a) *Protocole expérimental.* Notre étude a été réalisée à l'aide du sérum anti-D incomplet d'une part et à partir d'hématies sensibilisées prélevées chez des malades atteints d'anémie hémolytique avec auto-anticorps d'autre part. La mobilité a été étudiée dans un premier temps dans le sérum physiologique et dans un second dans des solutions d'albumine de concentration croissante.

a) *Résultats.* En milieu salin, nous n'avons pas trouvé de différence de charge entre des hématies revêtues ou non d'anticorps incomplets (20 mesures jusqu'à ce jour).

Par contre, l'étude de la mobilité en milieu albumineux avec des concentrations de 10, 15, 60 % montre que les hématies sensibilisées par des auto-anticorps d'anémie hémolytique de la classe IV, selon la classification de SALMON (au même titre que les classes I et V), ont une mobilité différente de celle d'hématies normales dans les mêmes conditions (12 cas) (fig. 6).

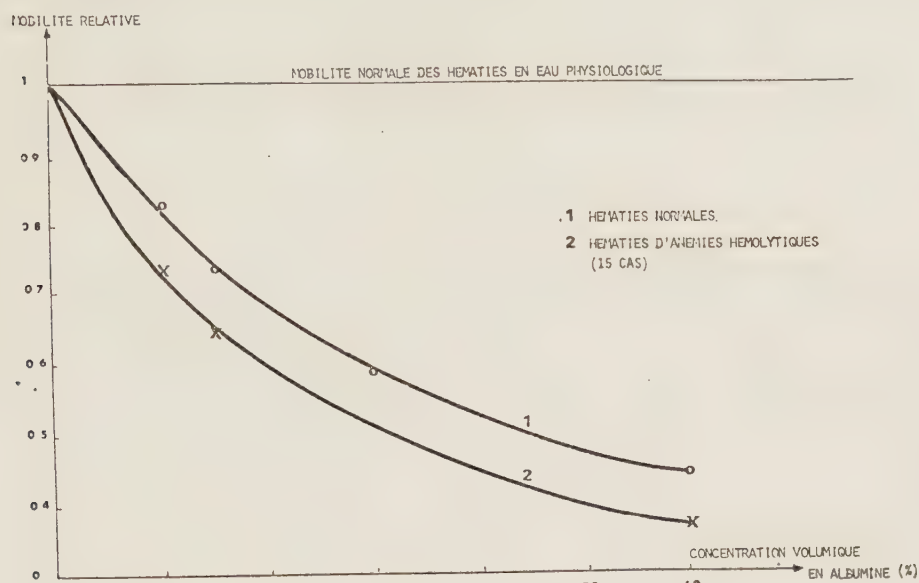


FIG. 6. — Action de l'albumine bovine sur des hématies normales et des hématies d'anémies hémolytiques par auto-anticorps.

5° Etude des variations de la mobilité des hématies après traitement par les enzymes protéolytiques et après mise en suspension dans l'albumine bovine.

a) Action des enzymes protéolytiques : broméline et papaine. L'adjonction au milieu de réaction de quantités croissantes d'enzyme variant de 25 à 1 000 mg/100 ml montre que celle-ci entraîne une diminution importante de la charge de surface en rapport avec la concentration d'enzymes. Ainsi, la mobilité s'abaisse dans des proportions allant de 30 à 70 %. Le temps à l'optimum d'action se situant entre 8 et 20 mn, pour une concentration érythrocytaire de 1 %.

Les résultats sont pratiquement comparables en ce qui concerne la broméline et la papaine.

Le maximum de l'action enzymatique semble plus rapidement atteint aux faibles concentrations qu'il ne l'est avec les fortes. De plus, après une diminution importante de la mobilité à laquelle nous parvenons en quelques minutes, il semble parfois exister une remontée et atteinte d'un plateau. Enfin, aux fortes concentrations d'enzymes nous n'avons pas observé de modification dans l'antigénicité des hématies soit ABO, soit Rhésus.

b) Action de l'albumine bovine. Au même titre que les enzymes protéolytiques, l'albumine bovine provoque une diminution de la mobilité électrophorétique des érythrocytes, cette diminution est en relation directe avec la concentration d'albumine (fig. 6).

c) *Conclusion.* Parmi les substances capables de provoquer une diminution de la charge de surface des érythrocytes, les enzymes protéolytiques du type broméline ou papaine, d'une part, et l'albumine bovine, d'autre part, semblent être des éléments privilégiés, encore que leur mode d'action soit différent. Cette baisse de charge, mise en évidence par la diminution de la mobilité électrophorétique, est sans doute à placer en parallèle avec leur rôle dans la détection des anticorps non agglutinants.

(Centre Régional de Transfusion Sanguine et d'Hématologie de Nancy
[Directeur : P^r Agr. F. STREIFF], 9 et 11, rue Lionnois, F.54-Nancy.)

RÉFÉRENCES

Nous ne donnons ici que les références principales concernant le sujet traité.

1. ABRAMSON (H. A.) (1929) : The cataphoretic velocity of mammalian red blood cells. *J. Gen. Physiol.*, **12**, 711.
2. ABRAMSON (H. A.) (1965) : Electrophoresis of blood cells. In : *Biophysical mechanisms in vascular homeostasis and intravascular thrombosis*. Session I. Ed. Meredith publ. Co., New York, p. 3.
3. ABRAMSON (H. A.), GORIN (M. H.) et PONDER (E.) (1940) : Electrophoresis and the chemistry of cell surfaces. Cold spring Harbor symposia on quantitative. *Biology*, **8**, 72.
4. AMBROSE (E. J.) (1965) : *Cell electrophoresis*. A symposium held under the patronage of the british biophysical society at the chester beatty research institute of the institute of cancer research in London. J. A. Churchill Ltd., London W.1.
5. AMBROSE (E. J.) et EASTY (G. C.) (1960) : Membrane structure in relation to cellular mobility. *Proc. Roy. Phys. Soc. Edimburg*, **28**, 53.
6. ARNOLD (R.) (1967) : Zur Bedeutung der Zellelektrophorese für Hämatologische Fragen. *Haematologica*, **1**, 193.
7. BANGHAM (A. D.), PETHICA (B. A.) et SEAMAN (G. V. F.) (1958) : The charged groups at the interface of some blood cells. *Biochem. J.*, **69**, 12.
8. BRINTON (C. C.) et LAUFFER (M. A.) (1959) : The electrophoresis of viruses, bacteria and cells and the microscope method of electrophoresis. In : *Electrophoresis theory, methods and applications*. M. Bier, édit., p. 427. Academic Press, New York.
9. BRODY (O. V.) et ONCLEY (J. L.) (1965) : Effect of erythrocyte net charge upon agglutination and rouleaux formation. In : *Biophysical mechanisms in vascular homeostasis and intravascular thrombosis*. Ed. Meredith publ. Co., New York, p. 239.
10. CARSTENSEN (E. L.), FUHRMANN (G. F.), SMEARING (R. W.) et KLEIN (L. A.) (1968) : The influence of conductivity on the electrophoretic mobility of red blood cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **156**, 394.
11. CARVALHO (A. P.), SANUI (H.) et PACE (N.) (1963) : Calcium and magnesium binding properties of cell membrane materials. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **62**, 311.
12. CHU (B.) (1967) : *Molecular forces based on the baker lectures of Peter J. W. Debye*. Interscience publ., New York, London, Sydney.
13. COOK (G. M. W.), HEARD (D. H.) et SEAMAN (G. V. F.) (1960) : A sialomucopolysaccharide liberated by trypsin from the human erythrocyte. *Nature*, **188**, 1011.
14. COOK (G. M. W.), HEARD (D. H.) et SEAMAN (G. V. F.) (1961) : Sialic acids and the electrokinetic charge of the human erythrocyte. *Nature*, **191**, 44.
15. COULTER (C. B.) (1920) : The isoelectric point of red blood cells and its relation to agglutination. *J. Gen. Physiol.*, **3**, 309.

16. GREGER (W. P.), TULLEY (E. H.) et HANSEN (D. G.) (1955) : A note on microelectrophoresis of red cells. *Stanford Med. Bull.*, **13**, 16.
17. DANON (D.), GOLDSTEIN (L.), MARIKOVSKY (Y.) et SKUTELSKY (E.) (1970) : Cationized ferritin used for labelling of negative charges on cell surfaces. *Proceeding on the 7th Congr. Int. Microscopy electronic*, p. 33.
18. DOMMERT (A. R.) et DIMOPOULLOS (G. T.) (1967) : Relationship of electrophoretic mobility to the sialic acid concentration of erythrocytes in bovine anaplasmosis. *Amer. J. Vet. Res.*, **28**, 1173.
19. EYLAR (E. H.), MADOFF (M. A.), BRODY (O. V.) et ONCLEY (J. L.) (1962) : The contribution of sialic acid to the surface charge of erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **237**, 1992.
20. FUHRMANN (G. F.) et RUHENSTROTH-BAUER (G.) (1965) : Cell electrophoresis employing a rectangular measuring cuves. In : *Cell electrophoresis*. Symposium held under the patronage of the british biophysical society. Ed. E. J. Ambrose, London, J. A. Churchill Ltd.
21. FURCHGOTT (R. F.) et PONDER (E.) (1941) : Electrophoretic studies on human red blood cells. *J. Gen. Physiol.*, **24**, 447.
22. GENETET (B.), STOLTZ (J. F.), PETERS (A.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1969) : Modification de la mobilité électrophorétique des hématies par la broméline. Corrélation immuno-hématologique. *C. R. Soc. Biol.*, **163**, 499.
23. GLAESER (R. M.) et MEL (H. C.) (1964) : The electrophoretic behaviour of osmium tetroxide-fixed and potassium permanganate-fixed rat erythrocytes. *Bioch. Biophys. Acta*, **79**, 606.
24. GOUY (M.) (1870) : Sur la constitution de la charge électrique à la surface d'un électrolyte. *J. Physiol.*, **9**, 457.
25. HEARD (D. H.) et SEAMAN (G. V. F.) (1960) : The influence of pH and ionic strength on the electrokinetic stability of the human erythrocyte membrane. *J. Gen. Physiol.*, **43**, 535.
26. HUNTER (R. J.) (1960) : Constancy of the surface charge density of human erythrocytes at different ionic strengths. *Arch. Biochem.*, **88**, 308.
27. KOMAGATA (S.) (1933) : On the measurement of cataphoretic velocity * I. Microscopic method. *Res. Electrotech. Lab. Japan*, **348**, 5.
28. LANGMUIR (A.) (1915) : The constitution and fundamental properties of solids and liquids. I. Solids. *J. Amer. Chem. Soc.*, **38**, 2221.
29. LARCAN (A.) et STOLTZ (J. F.) (1970) : *Hémorhéologie et microcirculation*. 1 vol. Masson et Cie, édit., Paris, 274 p.
30. LARCAN (A.) et STOLTZ (J. F.) (1972) : Potential Zeta et charge superficielle en biologie. Approche de certaines propriétés de la membrane du globule rouge humain à l'aide de l'électrophorèse en phase liquide. *J. Chim. Phys.* (à paraître).
31. LARCAN (A.), STOLTZ (J. F.), NICLAUSE (M.) et STREIFF (F.) (1970) : Les phénomènes électrocinétiques. Applications à la suspension sanguine et à l'étude du système vasculaire. *Agressologie*, **11**, 317.
32. LARCAN (A.), STOLTZ (J. F.) et STOLTZ (M.) (1971) : Importance de la charge des éléments figurés dans la stabilité sanguine. *C. R. Acad. Sci.*, série D, 163.
33. LARCAN (A.), STOLTZ (J. F.), STOLTZ (M.) et PETERS (A.) (1969) : Introduction à l'étude des phénomènes électrocinétiques dans les suspensions. Applications au sang. *Path. Biol.*, **17**, 405.
34. MERISHI (J. N.) et SEAMAN (G. V. F.) (1968) : Electrokinetic properties of dispersions of model compounds of biological interest. *Trans. Faraday Soc.*, **64**, 3152.
35. OVERBEEK (J. TH. G.) et LIKHLEMA (J.) (1959) : Electrical potentials in colloid system. In : *Electrophoresis, theory, methods and applications*. Ed. M. Bier, p. 16. Academic Press, New York.
36. PETERS (A.), STOLTZ (J. F.), GENETET (B.), LARCAN (A.) et STREIFF (F.) (1969) : Effets des anticorps anti-A et anti-B sur la mobilité électrophorétique des hématies. *C. R. Soc. Biol.*, **163**, 718.

37. POLLACK (W.), HAGER (H. J.), RECKEL (R.), TOREN (D. A.) et SINGHER (H. O.) (1965) : A study of the forces involved in the second stage of hemagglutination. *Transfusion*, 158.
38. PONDER (E.) (1951) : Effects produced by trypsin on certain properties of the human red blood cell. *Blood*, 6, 350.
39. PULCHER (C.) (1933) : Studies on isoagglutination and the electrokinetic potential of erythrocytes by means on a new cataphoretic cell. *Arch. Ges. Physiol. (Pflügers)*, 232, 248.
40. RUHENSTROTH-BAUER (G.) (1965) : The electric charge of blood cells. In : *Biophysical mechanisms in vascular homeostasis and intravascular thrombosis*. Ed. P. N. Sawyer, Meredith publ. Co., New York.
41. SACHTLEBEN (P.) (1965) : The influence of antibodies on the electrophoretic mobility of red blood cells. In : *Cell electrophoresis*. Ed. E. J. Ambrose, London, J. A. Churchill, édit., p. 100.
42. SEAMAN (G. V. F.) (1967) : The role of electrical charge in the suspension stability and the properties of red cell suspensions. *Biorheol.*, 4, 95.
43. SEAMAN (G. V. F.) et COOK (G. M. W.) (1965) : Modification of the electrophoretic behaviour of the erythrocytes by chemical and enzymatic methods. In : *Cell electrophoresis*, p. 48. Ed. E. J. Ambrose and J. A. Churchill, London.
44. SEAMAN (G. V. F.) et HEARD (D. H.) (1960) : The surface of the washed human erythrocyte as a polyanion. *J. Gen. Physiol.*, 44, 251.
45. SEAMAN (G. V. F.), JACKSON (L. J.) et UHLENBRUCK (G.) (1967) : Action of alpha-amylase preparations and some proteases on the surface of mammalian erythrocytes. *Arch. Bioch. Bioph.*, 122, 605.
46. SEAMAN (G. V. F.), KOK (D. A.) et HEARD (D. H.) (1962) : The electrophoretic mobility of human cells resuspended in their native serum. *Clin. Sci.*, 23, 115.
47. SEAMAN (G. V. F.) et PETHICA (B. A.) (1964) : A comparison of the electrophoretic characteristic of the human normal and sickle erythrocytes. *Biochem. J.*, 90, 573.
48. SENNETT (P.) et OLIVIER (J. P.) (1965) : Colloidal dispersions, electrokinetic effects, and the concept of zeta potential. *Industrial and engineering chemistry*, 57, 32.
49. STOLTZ (J. F.), GENETET (B.), PIERRON (N.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1970) : Influence des phytoagglutinines sur la mobilité électrophorétique d'hématies de groupe O, A et AB. *C. R. Soc. Biol.*, 164, 1321.
50. STOLTZ (J. F.), GENETET (B.), VIGNERON (C.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1971) : A study of the antigen-antibody influence on erythrocyte by means of liquid phase electrophoresis. *1^{er} Congrès Europ. Biophys.* (Vienne).
51. STOLTZ (J. F.) et LARCAN (A.) (1971) : Mesure de la mobilité électrophorétique de particules colloïdales en suspension. Applications aux éléments figurés du sang. 4^e Congrès du Collège français de Pathologie vasculaire. *Exp. Sci.*, 411.
52. STOLTZ (J. F.), LARCAN (A.) et NICLAUSE (M.) (1970) : A propos d'une cellule d'électrophorèse en phase liquide à double voie rectangulaire. *J. Chim. Phys.*, 67, 1678.
53. STOLTZ (J. F.), STOLTZ (M.), GINESTE (J.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1970) : Influence du pH sur la mobilité électrophorétique des hématies et des plaquettes humaines. Recherche du point isoélectrique. *Path. Biol.*, 18, 159.
54. STOLTZ (J. F.), STOLTZ (M.), PETERS (A.) et LARCAN (A.) (1969) : Aspects théoriques sur les phénomènes de flocculation en biologie. *Ann. Biol. clin.*, 27, 1.
55. STOLTZ (J. F.), STOLTZ (M.), PETERS (A.), COLLIN (F.) et LARCAN (A.) (1969) : Méthode de mesure de la mobilité électrophorétique des particules colloïdales en suspension. Théorie et comparaison entre différentes cellules. *J. Chim. Phys.*, 66, 922.
56. STOLTZ (J. F.), STOLTZ (M.), PETERS (A.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1969) : Influence des différents constituants plasmatiques sur le potentiel zéta des érythrocytes humains. *C. R. Soc. Biol.*, 163, 1605.
57. STOLTZ (J. F.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1969) : Effets électrophorétiques. Applications à la suspension sanguine. 1^{re} partie. *Rev. fr. Transf.*, 12, 409.

58. STOLTZ (J. F.), LARCAN (A.), STREIFF (F.) et NICLAUSE (M.) (1971) : Etude de la fixation des ions calcium sur la membrane érythrocytaire à l'aide de l'électrophorèse en phase liquide. *C. R. Soc. Biol.* (à paraître).
 59. STOLTZ (J. F.), VIGNERON (C.), STREIFF (F.) et LARCAN (A.) (1971) : Données actuelles sur la rhéologie de l'hématie. *Biorhéology*, 8, 11-22.
 60. STREIFF (F.), PETERS (A.), STOLTZ (J. F.), GENETET (B.) et LARCAN (A.) (1969) : II. Modifications de la mobilité électrophorétique des hématies sous l'action des anticorps anti-A et anti-B et de la broméline. Essais de corrélations immuno-hématologiques. *Rev. fr. Transf.*, 12, 423.
 61. STREIFF (F.), STOLTZ (J. F.) et GENETE (B.) (1970) : Une nouvelle méthode d'étude de la réaction antigène-anticorps sur les hématies. *Bull. diplômés de Microbiol. de Nancy*, n° 120, 1.
 62. STREIFF (F.), STOLTZ (J. F.) et LARCAN (A.) (1971) : Application de l'électrophorèse de particules à l'étude des éléments figurés du sang. *Rev. Sci. méd.* (à paraître).
 63. STREIFF (F.), STOLTZ (J. F.), GENETET (B.), RAFFOUX (C.) et LARCAN (A.) (1971) : Modifications de la mobilité électrophorétique des hématies d'anémies hémolytiques à auto-anticorps. *C. R. Soc. Biol.* (à paraître).
 64. VIGNERON (C.), STOLTZ (J. F.) et STREIFF (F.) (1971) : Fixation non immunologique de l'albumine et des immunoglobulines sur les érythrocytes (Etude préliminaire). *1^{er} Congrès Europ. Biophys.* (Vienne).
 65. WEISS (L.) et WOODBRIDGE (R. F.) (1967) : Some biophysical aspects of cell contacts. *Fed. Proc.*, 26, 88.
 66. WILKINS (D. J.) et BLIZNAKOV (E. G.) (1970) : The influence of modifying the surface properties of sheep red cells upon hemolytic antibody production in mice. *Vox Sang.*, 18, 163.
-

Modifications de la mobilité électrophorétique des hématies
d'anémies hémolytiques à auto-anticorps.

par F. STREIFF, J. F. STOLTZ, B. GENETET, C. RAFFOUX et A. LARCAN.

Ce travail a pour but l'étude des modifications de la mobilité électrophorétique des hématies de patients présentant une anémie hémolytique à auto-anticorps. Les globules rouges de ces anémies ont été étudiés d'une part en milieu salin et en plasma autologue et, d'autre part, ils l'ont été en milieu albumineux.

Matériel et Méthode. — A. DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DES MALADIES HÉMOLYTIQUES. — Chaque anémie est étudiée à l'aide de deux prélèvements, l'un effectué à 37°C, l'autre à + 4°C. Les hématies sont lavées 6 fois en eau physiologique, soit à 37°C, soit à + 4°C. Sur chaque catégorie, un test direct de Coombs Mourant et Race est effectué à l'aide d'antiglobulines polyvalentes anti γ G, anti γ M et anti complément. Nous avons classé ces anémies en 5 classes selon la terminologie adoptée par Gerbal (1, 2).

B. PRÉPARATION DES SUSPENSIONS ET MESURE DE LA MOBILITÉ ÉLECTROPHORÉTIQUE. — L'albumine bovine est utilisée habituellement dans la mise en évidence des anticorps non agglutinants, fixés *in vivo* ou *in vitro* sur les érythrocytes. C'est pourquoi nous avons comparé la mobilité d'hématies normales, en présence d'albumine bovine à différentes concentrations, à la mobilité d'hématies provenant de malades atteints d'anémie hémolytique par auto-anticorps, selon les mêmes conditions opératoires.

(1) A. Gerbal, J. C. Homberg, H. Rochant, G. Ligerge, F. Delarue et Ch. Salmon, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 1967, t. 7, p. 401.

(2) A. Gerbal, J. C. Homberg, H. Rochant, L. Perron et Ch. Salmon, *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 1968, t. 8, p. 155.

Cas	40 % albumine		45 % albumine		60 % albumine		Type d'anémie	Classification selon Salmon
	témoin	malade	témoin	malade	témoin	malade		
Leb.....	0,86 + 0,04	0,73 + 0,04	0,78 + 0,04	0,65 + 0,05	0,45 + 0,05	0,39 + 0,06	$\gamma_M + C$	I
Laf.....	0,81 + 0,04	0,70 + 0,05	0,73 + 0,04	0,65 + 0,05	0,47 + 0,05	0,41 + 0,06	γ_C	IV
Beg.....	0,85 + 0,04	0,69 + 0,05	0,77 + 0,04	0,62 + 0,05	0,48 + 0,05	0,42 + 0,06	$\gamma_G + \gamma_M + C$	V
Fre.....	0,84 + 0,03	0,76 + 0,04	0,74 + 0,04	0,66 + 0,05	0,45 + 0,06	0,40 + 0,06	$\gamma_M + C$	I
Mau.....	0,85 + 0,04	0,76 + 0,04	0,69 + 0,05	0,62 + 0,05	0,40 + 0,05	0,36 + 0,06	$\gamma_M + C$	I
Val.....	0,83 + 0,04	0,73 + 0,04	0,75 + 0,05	0,64 + 0,04	0,48 + 0,06	0,39 + 0,06	$\gamma_M + C$	I
Geo.....	0,81 + 0,04	0,74 + 0,05	0,71 + 0,05	0,64 + 0,05	0,41 + 0,05	0,35 + 0,04	γ_C	IV
Wen.....	0,87 + 0,05	0,77 + 0,04	0,75 + 0,03	0,68 + 0,04	0,41 + 0,04	0,36 + 0,04	$\gamma_M + C$	I
Laf.....	0,85 + 0,04	0,74 + 0,06	0,75 + 0,04	0,67 + 0,03	0,44 + 0,04	0,38 + 0,05	γ_C	IV
Mit.....	0,86 + 0,04	0,74 + 0,05	0,74 + 0,03	0,67 + 0,04	0,42 + 0,05	0,37 + 0,06	C	III

Tableau I. — Modification de la mobilité relative d'hématies d'anémies hémolytiques à auto-anticorps en présence de différentes concentrations d'albumine. (Mobilité relative par rapport à l'eau physiologique.)

Le sang servant aux mesures a été prélevé sur citrate de sodium (mélange ACD classique) à raison d'un rapport anticoagulant/sang = 2/7 environ.

Après centrifugation et récupération du plasma, les hématies ont été lavées 2 fois à l'aide d'eau physiologique à 20°C, quel que soit le type d'anémie hémolytique. Nous avons alors vérifié la positivité du test de Coombs Mourant et Race direct. Nous avons ensuite préparé les suspensions servant aux mesures par adjonction de 10 %, 15 % et 60 % d'albumine suivant le cas. La concentration finale en hématies a toujours été de 1 %.

La mobilité électrophorétique a été mesurée à l'aide d'un appareil d'électrophorèse en phase liquide, à cellule rectangulaire, que nous avons eu l'occasion de décrire par ailleurs (3) et toutes les expériences

Nombre d'échantillons étudiés	10		
Concentration en albumine (%)	10	15	60
Mobilité relative moyenne des témoins	0,84	0,74	0,44
Mobilité relative moyenne des hématies pathologiques	0,74	0,65	0,38
Loi de Student-Fischer			
$T = \frac{m1 - m2}{\sqrt{\frac{\sigma 1^2}{n1} + \frac{\sigma 2^2}{n2}}}$			
	10,40	9,1	4,91
T = 2,101			

Tableau II. — Comparaison des modifications de la mobilité relative d'hématies d'anémies hémolytiques par rapport à des hématies normales en présence d'albumine bovine.

ont été réalisées à 20°C. La mobilité a été calculée en référence à la mobilité d'hématies normales en eau physiologique qui a été trouvée égale à $1,10 \pm 0,04 \mu/s/V/cm$. Les résultats, pour chaque valeur donnée, ont été calculés par comptage de 60 particules, avec inversion du sens du champ électrique toutes les cinq particules.

Résultats. — Dans un premier temps, nous avons étudié la mobilité électrophorétique des hématies pathologiques en plasma autologue, d'une part, et en eau physiologique, d'autre part. Nous avons comparé ces mobilités à la mobilité d'hématies normales dans ces deux milieux. Sur les 10 cas étudiés, nous n'avons trouvé aucune différence significative de la mobilité.

Le second temps de notre expérience a consisté à mettre en suspension les hématies en eau physiologique et albumine ; les concentrations en albumine utilisées sont de 10, 15 et 60 %.

(3) J. F. Stoltz, M. Stoltz, A. Peters, F. Collin et A. Larcen, *J. Chim. Phys.*, 1969, t. 66, p. 922.

Nos résultats, pour les 10 cas étudiés (4), sont résumés sur le tableau I. On constate, en particulier, que l'albumine induit une diminution de la mobilité électrophorétique des hématies normales et pathologiques. Nous avons retrouvé ce que l'un de nous (5) avait montré, que l'albumine seule provoque une diminution de charge de l'hématie normale, cette diminution étant directement proportionnelle à la concentration en albumine.

Nous constatons qu'avec chaque concentration d'albumine (sur le tableau), la diminution de mobilité des hématies, sensibilisées par l'auto-anticorps, est plus importante que celle des hématies témoin.

Afin de tester si les différences observées sont significatives, nous avons réalisé un test statistique entre les populations normales et pathologiques pour chaque concentration en albumine. Les résultats (tableau II) prouvent que les différences observées sont effectivement significatives.

Discussion et commentaires. — Contrairement au cas des hématies A ou B revêtues d'anticorps anti A ou anti B, nous ne constatons aucune différence entre la mobilité électrophorétique des hématies recouvertes d'auto-anticorps et celle des hématies normales en milieu salin ou plasmatique (6).

Par contre, la migration en milieu albumineux permet d'obtenir une variation dans la vitesse de déplacement des cellules, variation qui va dans le sens de la diminution quelle que soit la classe d'anémie hémolytique étudiée. Cette diminution est proportionnelle à la concentration en albumine, seul paramètre variable au cours de notre série expérimentale (*).

(Laboratoire du Centre Régional de Transfusion Sanguine,
[Directeur : M. F. Streiff], 9-11, rue Lionnois, 54 - Nancy).

(4) C. Raffoux, Etude clinique, biologique et physiopathologique des anémies hémolytiques à auto-anticorps. A propos de 44 cas, Mémoire du C.E.S. d'Hématologie Supérieure, 1971.

(5) B. Genetet, Le potentiel Zeta des éléments figurés du sang, Mémoire du C.E.S. d'Hématologie Supérieure, 1968.

(6) F. Steiff, A. Peters, J. F. Stoltz, B. Genetet et A. Larcen, *Rev. Fr. Transf.*, 1969, t. 12, p. 423.

(*) Ce travail a été réalisé avec l'aide de la D.R.M.E. (Section Biologie) Contrat de recherche N° 71.34.010.00.480.75.01.

Mise en évidence des antigènes du système ABO sur les lymphocytes humains à l'aide de l'électrophorèse en phase liquide¹

J. F. STOLTZ, F. STREIFF, B. GENETET et A. LARCAN

Centre régional de Transfusion sanguine et d'Hématologie, Nancy

Abstract. The effect of anti-A and anti-B antibodies on the mobility of A, B and O lymphocytes has been studied by means of liquid phase electrophoresis. A reduction in electrophoretic mobility was observed when the antibodies were in the presence of the supposed antigens of the same specificity. Since ionic strength remained constant throughout the experiment, these results demonstrate indirectly the existence of ABO system antigens on human lymphocytes.

Key Words

Liquid phase electrophoresis

Leukocyte blood groups

Lymphocyte antigens

Les études sur la charge des leucocytes restent à ce jour peu nombreuses. Différents domaines d'étude ont cependant été envisagés [19]. C'est ainsi que l'on a pu appliquer cette technique à l'étude théorique de la membrane [2, 13, 20, 21], à certaines études immunologiques [4, 7] ou à la recherche de variations pathologiques éventuelles des éléments figurés de la lignée blanche [9, 10, 12]. Nous-mêmes avons étudié et précisé l'influence du pH et des anticorps cytotoxiques sur la charge lymphocytaire [8, 18]. Par contre, l'influence des anticorps du système ABO sur la mobilité électrophorétique des lymphocytes n'a jamais, à notre connaissance, été envisagée [17].

Le but de ce travail est de mettre en évidence l'action des anticorps anti-A de B et anti-B de A sur les lymphocytes prélevés chez des individus de phénotypes érythrocytaires A, B ou O, afin de montrer, par l'électrophorèse en phase liquide, que les antigènes considérés sont portés par cette variété de cellules sanguines. Pour des raisons d'approvisionnement en

¹ Ce travail a été réalisé avec l'aide de la DRME (section biologie), contrat no 71.34.010.00.480.75.01.

suspensions lymphocytaires, nous n'avons pas étudié à ce jour des lymphocytes prélevés sur des donneurs de groupe AB.

Il est certain cependant que la présence des antigènes du système ABO sur les leucocytes n'est pas contestée [5] et que de nombreux travaux depuis 1955, à l'aide de méthodes expérimentales diverses, l'ont prouvé. Parmi ceux-ci, rappelons ceux de RIIS [11], par la réaction d'agglutination, BERROCHE et coll. [3] par le test d'adsorption-élution, enfin ceux de GURNER et COOMBS [6] qui le montrent par une réaction d'agglutination mixte érythrocytaire. D'autres auteurs, comme ANDERSON et WALFORD [1], ont également prouvé l'existence des antigènes ABH sur les éléments blancs du sang, mais non sur les lymphocytes en particulier.

Matériel et méthode

Séparation des lymphocytes. Nous avons utilisé la technique rapide de HARRIS et coll. en centrifugation lente, en gradient de ficoll-triosil à la température de 18 °C. Le sang défibriné est mélangé, à raison de 1 vol. pour 3, à du sérum physiologique tamponné et déposé délicatement à la surface de la solution de ficoll-triosil. Après centrifugation de 20 min à 400 g et 18 °C, les lymphocytes apparaissent à l'interface plasma ficoll-triosil, les différents éléments étant alors répartis de la manière suivante de bas en haut dans le tube: globules rouges; granulocytes, plaquettes; dans le culot: ficoll-triosil, lymphocytes sous forme d'un anneau, enfin plasma surnageant. Les lymphocytes sont alors prélevés à la pipette et resuspendus en liquide de Hanks.

Anticorps utilisés. Nous avons utilisé un sérum anti-A de B de deux donneurs et titrant 1/512 (à dilution géométrique de raison 2 en eau physiologique) et un sérum anti-B de A également de deux donneurs et titrant 1/350.

Technique d'électrophorèse en phase liquide. La mesure de la vitesse de migration d'une particule colloïdale dans un champ électrique est réalisée par observation microscopique dans une cellule de section rectangulaire ou circulaire (parfois à double voie). Pour éviter les effets électroosmotiques, les mesures doivent être réalisées en des points particuliers. C'est ainsi que pour une cellule circulaire il faut se placer au point

$$r = \frac{\sqrt{2}}{2} R$$

(où R est le rayon de la cellule) alors que pour une cellule rectangulaire on se placera aux points définis par les formules de KOMAGATA

$$\left[y = \pm b \sqrt{\frac{1}{3} \left(1 + \frac{384}{\pi^5 k} \right)} \right].$$

Nous avons d'ailleurs eu l'occasion de discuter la validité de ces formules [14]. Pour toutes les expériences décrites ci-dessous, nous avons utilisé un appareil d'électrophorèse appelé cytosphéromètre avec des électrodes à double bouchon de plâtre et une cellule rectangulaire [15].

Préparation des suspensions lymphocytaires. A partir des suspensions lymphocytaires en milieu de Hanks, nous avons préparé les suspensions de mesure. Celles-ci ont alors été préparées par mélange à volume égal de la suspension en milieu de Hanks avec, soit l'antisérum, soit le sérum d'un donneur de groupe AB dont on avait établi au préalable qu'il ne contenait ni anti-H, ni anticorps antiérythrocytaires ou antilymphocytaires. L'utilisation d'un tel protocole était nécessaire, car la comparaison entre les résultats doit être réalisée à force ionique constante.

Résultats

Nous avons pris comme mobilité électrophorétique² de référence (Mo) la mobilité de lymphocytes de groupe O⁺ suspendus dans un mélange: milieu de Hanks + sérum AB. Ceci nous a permis de définir, dans un milieu donné, la mobilité électrophorétique relative (M_r) qui est le rapport entre la mobilité dans le milieu considéré et la mobilité de référence Mo.

Nous avons alors obtenu les résultats suivants: (a) le sérum AB est sans action significative sur la mobilité relative des lymphocytes A ou B (tab. I, colonnes 1 et 3); (b) les antisérums utilisés sont sans action sur la mobilité relative de lymphocytes de groupe O (6 expériences pour chaque antisérum); (c) la mobilité relative des lymphocytes en milieu Hanks + antisérum est toujours diminuée (11 suspensions pour le groupe A, et 7 suspensions pour le groupe B) (tab. I, colonnes 2 et 4).

Du point de vue statistique, nous pouvons considérer que nous avons deux échantillons identiques (les suspensions de lymphocytes A ou B) qui reçoivent deux traitements différents (mise en présence d'un sérum AB ou mise en présence d'un antisérum). On peut donc appliquer le test des séries appariées, c'est-à-dire tester, par rapport à l'hypothèse nulle, les différences de mobilité entre les lymphocytes (A ou B) suspendus dans du sérum AB et suspendus dans l'antisérum correspondant.

A l'aide des résultats du tableau I, nous pouvons alors conclure que les populations considérées sont distinctes avec un seuil de signification à 5%. C'est-à-dire que l'antisérum a bien une action sur les lymphocytes

² La mobilité électrophorétique est définie comme étant le rapport entre la vitesse de migration et le champ électrique. Généralement, on l'exprime en $\mu/\text{sec}/\text{V}/\text{cm}$.

Tableau I. Influence d'un sérum AB et d'antisérums anti-A et anti-B sur la mobilité électrophorétique relative de lymphocytes A et B. (Mobilité de référence: lymphocyte O⁺ en milieu Hanks + sérum AB)

Numéro d'ex-périence	Mobilité relative de lymphocytes B en présence de sérum AB	Mobilité relative de lymphocytes B en présence d'anti-B	Mobilité relative de lymphocytes A en présence de sérum AB	Mobilité relative de lymphocytes A en présence d'anti-A
1	1,01	0,87	0,97	0,87
2	0,98	0,90	1,05	0,85
3	1,03	0,82	0,94	0,89
4	0,95	0,84	1,02	0,86
5	1,02	0,83	1,04	0,88
6	1,00	0,84	0,99	0,88
7	1,02	0,86	1,02	0,81
8			1,01	0,87
9			0,98	0,86
10			1,04	0,85
11			0,96	0,86
Moyenne	1,00 ± 0,06	0,85 ± 0,06	1,00 ± 0,07	0,86 ± 0,05

de groupe erythrocytaire correspondant. Comme nous avons travaillé à force ionique constante et que la seule différence entre les milieux de suspension est la présence ou l'absence de l'anticorps correspondant à l'antigène de même spécificité, supposé présent sur les lymphocytes, la signification des résultats met en évidence, de façon indirecte, la fixation des anticorps sur la membrane lymphocytaire et par suite la présence de l'antigène correspondant.

Conclusion

L'étude des variations de la mobilité électrophorétique de lymphocytes de groupes A ou B en présence d'anticorps anti-A et anti-B met en évidence une diminution de celle-ci, ce qui permet de mettre en évidence de façon indirecte la présence des antigènes correspondant sur la membrane lymphocytaire. Il est certain que les résultats restent qualitatifs et qu'aucun calcul de dénombrement des sites n'est possible. Cependant, ces résultats sont conformes à ceux que nous avons déjà trouvés pour les hématies [16] et les plaquettes [14].

Résumé

Les auteurs étudient à l'aide de l'électrophorèse en phase liquide l'action des anticorps anti-A et anti-B sur la charge de lymphocytes A, B ou O. Ils constatent alors une diminution de mobilité électrophorétique lorsque l'anticorps et l'antigène (supposé présent), de même spécificité sont mis en présence. Comme la force ionique reste constante au cours de l'expérience, ces résultats permettent donc de mettre en évidence de façon indirecte l'existence des antigènes du système ABO sur les lymphocytes humains.

Bibliographie

- 1 ANDERSON, R. E. and WALFORD, R. L.: Direct demonstration of A, B and Rho (D) blood group antigens on human leukocytes. *Amer. J. clin. Path.* 40: 239-245 (1963).
- 2 BANGHAM, A. D.; PETHICA, B. A., and SEAMAN, G. V. F.: The charged groups at the interface of some blood cells. *Biochem. J.* 69: 12-17 (1958).
- 3 BERROCHE, L.; MAUPIN, B.; HERVIER, P. et DAUSSET, J.: Mise en évidence des antigènes A et B dans les leucocytes humains par des épreuves d'absorption et d'élution. *Vox Sang.* 5: 82-87 (1955).
- 4 BERT, G.; LAJOLO DI COSSANO, D., and PECCO, P.: The detection by cellular electrophoresis of surface antibodies on human lymphocytes. *Clin. exp. Immunol.* 5: 669-672 (1969).
- 5 DAUSSET, J.: Présence des antigènes A et B dans les leucocytes décelés par les épreuves d'agglutination. *C. R. Soc. Biol.* 148: 1607-1612 (1954).
- 6 GURNER, B. W. and COOMBS, R. A. A.: Examination of human leucocytes for ABO, MN, Rh, Tja, Lutheran and Lewis systems of antigens by means of mixed erythrocyte leucocyte agglutination. *Vox Sang.* 8: 13-22 (1958).
- 7 HARTVEIT, F.; CATER, B. B., and MEHRISCHI, J. N.: Changes in the electrophoretic mobility of mouse lymphocytes, thymocytes, macrophages and tumour cells following immunisation. *Brit. J. exp. Path.* 49: 634-645 (1968).
- 8 LARCAN, A.; STOLTZ, J. F.; GENETET, B. et STREIFF, F.: Recherche du point iso-électrique des lymphocytes humains en milieu de Hanks. *C. R. Soc. Biol.* 164: 1318-1320 (1970).
- 9 LICHTMAN, M. A. and WEED, R. I.: Electrophoretic mobility and N. acetyl neuraminic acid content of human normal and leukemic lymphocytes and granulocytes. *Blood* 35: 12-22 (1970).
- 10 MEHRISCHI, J. N.: Positively charges amino-groups on the surface of normal and cancer cells (human blood platelets, lymphocytes and Ehrlich ascites tumour cells). *Europ. J. Cancer* 6: 127-137 (1970).
- 11 RIIIS, P.: The presence of A and B antigens in human leucocytes examined by an agglutination test. *Acta haemat., Basel* 14: 302-308 (1955).
- 12 RUHENSTROTH-BAUER, G. und FUHRMANN, G. F.: Zellelektrophoretische Untersuchungen an menschlichen Blutzellen. *Blut* 8: 464-469 (1961).

- 13 SPLANGLER, G. and CASSEN, B.: Electrophoretic mobility, size distribution and electron micrograph responses of lymphocytes to radiation. *Radiat. Res.* 30: 22-27 (1967).
- 14 STOLTZ, J. F.: Les phénomènes physicochimiques aux interfaces solide-liquide. Applications à l'étude de la stabilité du sang et à certaines réactions immuno-hématologiques; thèse de doctorat ès sciences physique, Nancy 1971.
- 15 STOLTZ, J. F.; STOLTZ, M.; COLLIN, F.; PETERS, A. et LARCAN, A.: Méthode de mesure de la mobilité électrophorétique de particules colloïdales en suspension. Théorie et comparaison entre différentes cellules d'électrophorèse. *J. Chim. phys.* 66: 922-928 (1969).
- 16 STOLTZ, J. F.; GENETET, B.; VIGNERON, C.; STREIFF, F., and LARCAN, A.: A study of the antigen-antibody reaction on erythrocytes by means of liquid phase electrophoresis. *Proc. 1st Congr. Europ. Biophysics*, Wien 1971.
- 17 STOLTZ, J. F.; GENETET, B.; PIERRON, N.; STREIFF, F. et LARCAN, A.: Mise en évidence des antigènes du système ABO sur les lymphocytes humains. *C.R. Soc. Biol.* (à paraître 1972).
- 18 STREIFF, F.; STOLTZ, J. F.; GENETET, B. et HUMBERT, J. C.: Etude de la mobilité électrophorétique des lymphocytes humains. Calcul du Φ_i et action des anticorps cytotoxiques. *Rev. franç. Transf.* 13: 285-291 (1970).
- 19 STREIFF, F.; STOLTZ, J. F. et LARCAN, A.: Applications de l'électrophorèse de particules à l'étude des éléments figurés. *Rev. Sci. méd.* (à paraître, 1972).
- 20 VASSAR, P. S.; KENDALL, M. J., and SEAMAN, G. V. F.: Electrophoresis of human leucocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 135: 350-355 (1969).
- 21 WILKINS, D.; OTTERWILL, R. H., and BANGHAM, A. B.: On the flocculation of sheep leucocytes. 1. Electrophoretic studies. *J. theor. Biol.* 2: 165-169 (1962).

Adresses des auteurs: Dr. J. F. STOLTZ, Prof. F. STREIFF et Dr. B. GENETET, Centre régional de Transfusion et d'Hématologie, 9-11, rue Lionnois, F-54 Nancy; Prof. A. LARCAN, Service de Réanimation, CHU, F-54 Nancy (France)

Influence des anticorps de groupes sanguins
sur la mobilité électrophorétique des plaquettes,

par J. F. STOLTZ, B. GENETET, N. PIERRON, F. STREIFF et A. LARCAN.

La présence des antigènes du système ABO sur les plaquettes sanguines n'est plus discutée [Dausset (1*)]. La preuve en a été apportée par des techniques aussi différentes que la réaction mixte d'agglutination [Coombs et Bedford (2*)], la mesure de la durée de vie des éléments transfusés [Bosch et coll. (3*)] ou l'étude chimique (4*).

Notre propos est de rapporter les résultats qui nous ont permis de confirmer, grâce à l'électrophorèse en phase liquide, l'existence des antigènes A et/ou B sur les thrombocytes. Nous avons d'ailleurs utilisé cette méthode pour étudier sur les érythrocytes les différents phénotypes du système ABO (5*), ainsi que la fixation de phytoagglutinines spécifiques d'origine végétale (6*).

Technique expérimentale. — Nous avons étudié la mobilité électrophorétique des plaquettes à l'aide d'un appareil d'électrophorèse en phase liquide (7*). La cellule est à section rectangulaire et toutes les mesures ont été réalisées à 25°C.

(1*) J. Dausset, *Rev. franç. Et. Clin. Biol.*, 1966, t. 11, p. 777.

(2*) R. Coombs et D. Bedford, *Vox Sang.*, 1955, t. 5, p. 111.

(3*) L. J. Bosch, A. Jansz, H. A. Lammers, A. Van Leeuwen et J. J. Van Rood, A study of the antigenic structure of the thrombocyte by means of thrombocyte survival time estimation, 8th Congr. Europ. Soc. Haemat. Wien, 1961, p. 380.

(4*) B. D. Jankovic et K. Arsenijevic, *Nature*, 1959, t. 183, p. 695.

(5*) F. Streiff, J. F. Stoltz et B. Genetet, *Nouv. Rev. franç. Hémat.*, 1971 (à paraître).

(6*) J. F. Stoltz, B. Genetet, N. Pierron, F. Streiff et A. Larcen, *C. R. Soc. Biol.*, 1970, t. 164, p.

(7*) J. F. Stoltz, M. Stoltz, F. Collin, A. Peters et A. Larcen, *J. Chim. Phys.*, 1969, t. 66, p. 922.

Les suspensions plaquettaires étudiées ont été, soit des « plasmas riches en plaquettes » (PRP) (200 000 à 300 000 éléments par μ l) obtenues par simple centrifugation à 15 t/mn, pendant 15 mn à + 4°C, en poche plastique, soit des concentrés (1 à 2 millions de plaquettes/ μ l) obtenus par double centrifugation à + 4°C (d'abord 1 500 t/mn, puis 3 000 t/mn).

Les antisérums utilisés avaient pour titre, 256 pour l'anti-A, 500 pour l'anti-B. Quant à l'anti-AB, il titrait 400 vis-à-vis des globules rouges A1 et A2 et 500 vis-à-vis des globules rouges B et A1B.

Pour chacun des modes de préparation des plaquettes, nous avons étudié deux sortes de suspensions : dans le cas du PRP, nous avons fait des mélanges à raison de 1 volume d'antisérum avec 1 volume de suspension ; dans le cas des concentrés, la suspension d'étude a été obtenue par 1 volume de concentré pour 5 volumes d'antisérum. Les mobilités ont été calculées relativement à celles des plaquettes en plasma autologue.

Résultats. — Les plaquettes suspendues dans le milieu plasmatique ont, comme tous les éléments figurés, une charge de surface négative ; cette charge étant certainement l'un des paramètres importants dans le maintien de la stabilité physicochimique du sang (8*, 9*, 10*).

En ce qui concerne l'action des anticorps de groupe sanguin sur la mobilité plaquettaire, nous avons étudié l'action de ceux-ci sur des plaquettes de groupes A, B, AB et O (tableau).

Nos résultats montrent :

1. La mobilité des plaquettes prélevées chez des donneurs de sang, de phénotype érythrocytaire A, et soumises à un anti-A de B, est abaissée de 10 % à 15 %. Ce même anticorps ne perturbe pas la migration des plaquettes B, AB et O.

2. La mobilité des plaquettes prélevées chez des donneurs de sang, de phénotype érythrocytaire B, et soumises à un anti-B de A est diminuée de 10 à 15 %. Par contre, ce même anticorps ne perturbe pas la migration des plaquettes A, AB et O.

3. La mobilité des plaquettes prélevées chez des donneurs de sang de phénotype érythrocytaire AB, O, B et A, soumises à un anti-AB de O, n'est pas ou peu modifiée.

Commentaires. — Les diminutions de mobilité des plaquettes A et B, soumises pour les premières à l'action d'un anti-A et pour les secondes à celle d'un anti-B, ne semblent s'expliquer que par la fixation des anticorps. Ces résultats sont de même nature que ceux que nous avons établis avec les hématies (5*) et nous permettent de confirmer la présence des antigènes de groupes sanguins sur les plaquettes, d'autant que les anticorps anti-A et anti-B sont sans action sur les thrombocytes prélevés chez des donneurs O.

(8*) G. V. F. Seaman, Surface potential and platelet aggregation in platelets, their role in thrombosis and hemostasis, Schattner, Verlag, Stuttgart, 1967, p. 52.

(9*) J. F. Stoltz, M. Stoltz, A. Peters et A. Larcen, *Ann. Biol. Clin.*, 1969, t. 27, p. 1.

(10*) J. F. Stoltz, M. Stoltz et A. Larcen, Stability of the blood suspension and zeta potential, 2th conf. on hemorheology, Heidelberg 1969, Springer-Verlag (N.Y.), 1971.

En ce qui concerne l'action des anticorps anti-AB sur les plaquettes de phénotype A, B et AB, elle est difficilement explicable, en l'état actuel de nos travaux, étant donné le nombre restreint des mesures effectuées dans cette série d'expériences.

N° expérience		Plaquettes A		Plaquettes B		Plaquettes AB		Plaquettes O	
		$\frac{1}{2}$ P.R.P. $\frac{1}{2}$ antisérum +	2 ml concentré + 10 ml antisérum +	$\frac{1}{2}$ P.R.P. $\frac{1}{2}$ antisérum +	2 ml concentré + 10 ml antisérum +	$\frac{1}{2}$ P.R.P. $\frac{1}{2}$ antisérum +	2 ml concentré + 10 ml antisérum +	$\frac{1}{2}$ P.R.P. $\frac{1}{2}$ antisérum +	2 ml concentré + 10 ml antisérum +
Anti A	1	0,89	0,88	1,01		0,95		1,03	1,02
	2	0,90	0,87			0,98		0,99	
	3	0,83						1,02	
	4	0,86							
	5	0,85							
	6	0,87							
	7	0,86							
	8	0,86							
	9	0,86							
	10	0,86							
	11	0,88							
Anti B	12			0,86	0,84	0,92	0,94	1,03	1,04
	13			0,85	0,85	0,91		1,01	0,99
	14			0,87	0,86	0,96			
	15			0,87	0,92				
Anti AB	16	1,01	1,02	1,02	0,99	1,02	0,98	1,02	1,03
	17	0,99	1,03		1,03		0,97		0,99
	18		0,99		0,97				
	19		1,02						

Influence des anticorps de groupes sanguins
sur la mobilité électrophorétique des plaquettes
(Résultats en mobilité relative par rapport au plasma).

Résumé. — Les auteurs étudient l'action des anticorps de groupes sanguins sur la mobilité électrophorétique des plaquettes et montrent que : un anti-A diminue la mobilité des plaquettes A, mais non celle des plaquettes d'autres groupes ; un anti-B a la même action, mais sur les plaquettes B l'action de l'anti-B reste cependant difficile à expliquer.

(Centre Régional de Transfusion Sanguine et d'Hématologie
Directeur : M.F. STREIFF - 9 et 11 rue Lionnois NANCY)

